

PREPARATION OF 7S PROTEIN

Patent number: JP55124457
Publication date: 1980-09-25
Inventor: KOSHIYAMA IKUNORI; others: 01
Applicant: NODA SANGYO KAGAKU KENKYUSHO
Classification:
- international: A23J1/14
- european:
Application number: JP19790031168 19790319
Priority number(s):

Report a data error here

Abstract of JP55124457

PURPOSE: To obtain 7S proteins (P) in simple procedures efficiently, by extraction of P from soybeans at a specific pH, and by precipitation of the extract at an isoelectric point.

CONSTITUTION: Soybeans or defatted soybeans (B) directly or pulverized are incorporated with water or a salt solution, e.g. sodium or potassium chloride, in an amount of 10-20 times that of B, and adjusted to a pH 5.40-5.85, preferably 5.60-5.80, with acetic or hydrochloric acid, and proteins are extracted with stirring if necessary. The extract thus obtained is centrifuged to remove a precipitation fraction consisting mainly of 11S proteins. The supernatant is adjusted to pH4.5, and subjected to precipitation at an isoelectric point. The pH of the resulting precipitated proteins are made neutral, and subjected by gel or ultrafiltration to remove low-molecular protein fractions, e.g. 2S proteins.

Data supplied from the esp@cenet database - Patent Abstracts of Japan

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭55—124457

⑫ Int. Cl.³
A 23 J 1/14

識別記号 庁内整理番号
7258—4B

⑬ 公開 昭和55年(1980)9月25日
発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 7s蛋白質の製造法

⑮ 特 願 昭54—31168
 ⑯ 出 願 昭54(1979)3月19日
 ⑰ 発明者 越山育則
 流山市江戸川台東3丁目281番
 地

⑱ 発明者 福島男児

アメリカ合衆国ウイスコンシン
 州53147レイクジエノバ・ミラ
 一ロード1718
 ⑲ 出願人 財団法人野田産業科学研究所
 野田市野田399番地

明細書

1. 発明の名称

フロント蛋白質の製造法

2. 特許請求の範囲

大豆又は脱脂大豆をそのままか粉砕したものに、水もしくは塩類溶液を加え pH 5.40～5.85の範囲で蛋白質を抽出し、該抽出液を pH 4.5で等電沈澱させて得られる沈澱蛋白質を、ゲル濾過もしくは限外濾過し、低分子蛋白質区分を除去することを特徴とするフロント蛋白質の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明はフロント蛋白質の製造法に関し、その目的とするところは大豆類より大豆の主要構成蛋白質の一一種であるフロント蛋白質を極めて簡単な操作で、しかも収率良く製造する方法を提供することにある。

大豆に含有される蛋白質の約90%は、貯蔵形態の蛋白質でフロント、フロント、ノンフロント及びリグニンの沈降成分より構成されており、これらのうち

フロント及びノンフロントの成分は前記貯蔵形態の蛋白質の約70%を占めることが知られている。

上記フロント蛋白質のカルシウムグル又は加熱グルは、極めて保水性が高く柔軟性である為、食品加工用の素材として極めて有用である。

当食品業界に於いては、大豆蛋白質よりフロント蛋白質のみを経済的に、しかも収率良く得ることの出来る分画法の開発が強く望まれている。

そこで本発明者らは大豆フロント蛋白質を経済的に得ることを目的として、大豆貯蔵蛋白質(大豆グロブリン)の等電点(pH 4.5)よりアルカリ性側に於ける等電沈殿機構に關し銳意検討を重ねた結果、大豆蛋白質を pH 5.40～5.85と言う特定な pH 範囲で抽出したのち、その上清区分を pH 4.5で等電沈殿させ、次いで該沈殿区分をゲル濾過もしくは限外濾過で分画処理することにより、フロント蛋白質等の低分子区分を除去しフロント蛋白質のみを簡単に操作で、しかも効率良く得ることが出来ることを知り、本発明を完成した。

さわち本発明は、大豆又は脱脂大豆をそのまま

ノノ日蛋白質の混入量は減少しても、抽出される蛋白質の量が極度に減少する為必然的にノノ日蛋白質の収量も減少し、何れも本発明に於いては採用し得ない条件である。

次に前記抽出蛋白質を20,000~30,000 c.p.u.で20~30分間遠心分離し、ノノ日蛋白質成分を主体とする沈殿区分を除去したのち、該上清区分を前述の酢酸、塩酸、硫酸等でpHを4.5に調整して等電沈殿させ、さらに該沈殿区分を遠心分離し、その沈殿区分を採取する。

次いで該沈殿蛋白質区分のpHを中性にもどしたのち、これを常法により乾燥して製品化しても良いが、精製されたノノ日蛋白質製品を所望する場合には以下の工程により精製する。

すなわち、前記等電沈殿蛋白質区分を0.01M磷酸緩衝液(pH7.6)に溶解するか、又は該溶解液をダイヤフロー膜(米国、アミコン社製)、コロジオン膜(西独、ザルトリウス・メンプランフィルター社製)等の分子ふるい膜により透過し濃縮する。

- 4 -

次に上記溶解液もしくはその濃縮液を、セフアデックスG-100、G-150、G-200(スウェーデン、ファーマシヤ社製)、セフアローズ6B(スウェーデン、ファーマシヤ社製)、バイオゲルP-100、P-150、P-200(米国、バイオラド社製)等のカラムを用いてゲル通過するか、又はダイヤフロー膜XM50、XM100A、XM300(米国、アミコン社製)等を用いて限外濃過し、ノノ日蛋白質等の低分子蛋白質区分を除去してノノ日蛋白質区分のみを採取し、これを水で充分透析したのち、常法により凍結乾燥等により乾燥し本発明の精製ノノ日蛋白質製品を得る。

本発明により得られる精製ノノ日蛋白質は、超速心分析法(培風館、生物物理化学実験法、9~29頁(1962年)に記載の方法)に準じて測定した結果、第1図-(A)(0.4Mの塩化ナトリウムを含む0.01M磷酸緩衝液(pH7.6、イオン強度0.5)中の沈降図)に示す如くノノ日の沈降定数($\eta_{20,w}^{0.40\%} = 1.628$)の変化を示す。

そして本発明のノノ日蛋白質を、従来のノノ日蛋白質(I. Koshiyama Agr. Biol. Chem. 29 885 (1965年))と比較する為、免疫拡散法(松橋直、白井美津子、成田秀雄「化学と生物」9 25~31(1971年))により検定した結果、第2図に示す如く本ノノ日蛋白質(B)及び上記従来のノノ日蛋白質(A)と抗体血清(A)、前記(B)に対して家兔に作成した抗体血清(即ち、本発明に於いてはノノ日蛋白質と同一であることが確認された)。

本発明によれば、蛋白抽出時に特定なpHを採択するのみで、極めて簡易な操作で、しかも効率良く、食品加工用素材として極めて有用なノノ日蛋白質を得ることが出来、本発明は産業上極めて有用

- 3 -

- 6 -

である。

以下実施例により本発明を具体的に示す。

実施例 1

粉砕した脱脂大豆 300 g IC 3 L の水を加え、濃氷酢酸で pH 5.80 に調整し、60 分間室温で攪拌して蛋白質成分を抽出する。次いで該抽出液をガーゼで滤過して抽出残渣を除去したのち、抽出液を 18,000 r.p.m. で 60 分間遠心分離し、該残渣を完全に除去して 2.7 L の抽出液を得た。該抽出液の pH を濃氷酢酸で pH 4.5 とし、沈殿した蛋白質区分を 3,000 r.p.m. で 20 分間遠心分離して採取した。該沈殿区分を 500 ml の 0.01 M 構酸緩衝液 (pH 7.6) に溶解し、不溶性蛋白質区分を 18,000 r.p.m. で 30 分間遠心分離し除去して得られる上清液をダイヤフロー膜 PM-10 (米国、アミコン社製) で濃縮し、濃縮液 150 ml を得た。次いでこれを 0.01 M 構酸緩衝液 (pH 7.6) で緩衝化したセファデックス G-100 (スウエーデン、ファーマシヤ社製) のカラム (5 × 90 cm) に充填し、前記緩衝液 (pH 7.6) でゲル滤過しフ

- 7 -

滤過し、該濾液をダイヤフロー膜 PM-10 (米国、アミコン社製) で 50 ml に濃縮し、これを 0.01 M 構酸緩衝液 (pH 7.6) で緩衝化したセファデックス G-100 (スウエーデン、ファーマシヤ社製) のカラム (5 × 90 cm) に充填し、前記緩衝液 (pH 7.6) でゲル滤過しフ

ラクションコレクターで 1.5 ml ずつ分取し、1630 ~ 40 に於ける溶出区分を集め、これを水に透析後凍結乾燥して精製 7 日蛋白質製品 31.8 g を得た。

4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明により得られた精製 7 日蛋白質の超遠心沈降図を示すもので、第 1 図-(A) は 0.4 M 塩化ナトリウムを含む 0.01 M 構酸緩衝液 (pH 7.6、イオン強度 0.5)、第 1 図-(B) は 0.01 M 構酸緩衝液 (pH 7.6、イオン強度 0.1) に於ける、夫々超遠心沈降図である。

第 2 図は、本発明に係る精製 7 日蛋白質及び既知の 7 日蛋白質 (I. Koshiyama Agr. Biol. Chem. 29 885 (1965 年)) と抗体血清との免疫拡散法 (松橋直、白井美津子、成田秀雄「化学と生

特開昭 55-124457(3)
ラクションコレクターで 1.5 ml ずつ分取し、1630 ~ 40 に於ける溶出区分を集め、これを水に透析後凍結乾燥して精製 7 日蛋白質製品 31.8 g を得た。

得られた 7 日蛋白質は超遠心分析法による分析結果より均一なものであり、又使用原料大豆グロブリンの全 7 日蛋白質量に対し、67.3 % の収率であつた。

実施例 2

粉砕した脱脂大豆 100 g IC 0.5 M 塩化ナトリウム溶液を加えて懸濁し、塩酸で pH を 5.60 に調整し、60 分間室温で攪拌して蛋白質成分を抽出する。次いで該抽出液をガーゼで荒く滤過し残渣を除去したのち、抽出液を 18,000 r.p.m. で 60 分間遠心分離して残渣を除去し、上清液 900 ml を得た。該上清液の pH を 4.5 にし等電沈殿させた沈殿蛋白質区分を 3,000 r.p.m. で 15 分間遠心分離し採取した。該沈殿区分を 200 ml の 0.01 M 構酸緩衝液 (pH 7.6) に溶解した溶液をダイヤフロー膜 I M-300 (米国、アミコン社製) で

- 8 -

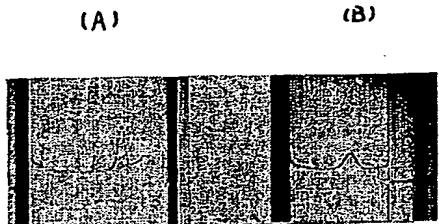
物 19125~131 (1971 年) IC よるゲル内沈降図である。

特許出願人 財團法人 野田産業科学研究所

- 9 -

- 10 -

第1図



第2図

